斜纹夜蛾嗅觉受体基因Ⅱ的表达谱分析

陈　茜[1]，吴仲南[1]，杜永均[1,*]，诸葛启钏[1,2]

(1. 温州医学院健康与环境生态研究所，浙江温州 325035；2. 温州医学院附属第一医院神经外科，浙江温州 325000)

摘要：气味调控斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 的觅食、交配和产卵等行为，而嗅觉受体(olfactory receptor, OR)作为气味的直接受体，是嗅觉神经信号产生的起点，是嗅觉信息的编码及信号的传递通路的重要组成部分。本研究通过 RT-PCR 和 Western blot 技术，对斜纹夜蛾嗅觉受体基因Ⅱ(*Spodoptera litura* olfactory receptor gene Ⅱ, *SlitOR2*)(GenBank 登录号：DQ845292)的组织特异性和不同发育阶段表达情况进行分析鉴定。半定量 RT-PCR 研究结果表明，*SlitOR2* 主要在成虫期的触角中表达，其他部位和发育期未检测到表达。Western blot 鉴定结果表明 SlitOR2 主要在成虫触角表达，与半定量 RT-PCR 结果基本一致。但在成虫足、头和中期蛹中也看到有微量蛋白表达。可能是与目的蛋白大小类似的其他非特异性蛋白条带，也可能是该蛋白在成虫足部、头部和中期蛹中有微量表达，因为足部的跗节和头部的口喙也分布有少量的嗅觉感器。目的条带单一清晰，表明制备的多肽抗体特异性较好，可以用于后续相关实验。

关键词：斜纹夜蛾；嗅觉受体；半定量 RT-PCR；Western blot；基因表达谱

中图分类号：Q966　**文献标识码**：A　**文章编号**：0454-6296(2011)08-0881-06

Expression profiling of olfactory receptor gene Ⅱ in the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae)

CHEN Xi[1], WU Zhong-Nan[1], DU Yong-Jun[1,*], ZHUGE Qi-Chuan[1,2] (1. Institute of Health & Environmental Ecology, Wenzhou Medical College, Wenzhou, Zhejiang 325035, China; 2. Department of Neurosurgery, 1st Affiliated Hospital, Wenzhou Medical College, Wenzhou, Zhejiang 325000, China)

Abstract: Odour chemically mediates foraging, mating and oviposition behaviour of the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera, Noctuidae). The olfactory receptor is a direct receptor of odours and a key component of olfactory system, which plays an important role in encoding and transmission pathway of olfactory signal. By using RT-PCR and Western blot techniques, the tissue-specific expression of *S. litura* olfactory receptor gene Ⅱ (*SlitOR2*) (GenBank accession no. DQ845292) in different developmental stages was analyzed and identified. Semi-quantitative RT-PCR analysis indicated that *SlitOR2* mRNA was mainly expressed in the adult antennae. Western blot result showed SlitOR2 was expressed mainly in the adult antennae, which was consistent with the previous semi-quantitative RT-PCR results. But there were also trace proteins which are expressed in the adult legs, head and mid-pupa. It could be the non-specific protein bands with similar size to target protein or the trace of proteins expressed in the adult legs, head and mid-pupa, because a small number of olfactory sensilla are distributed in both tarsi and proboscis. A clear single target band indicates that the obtained peptide antibody with high specificity can be used for further experiments.

Key words: *Spodoptera litura*; olfactory receptor; semi-quantitative RT-PCR; Western blot; gene expression profile

环境中不同来源的气味调控昆虫的觅食、交配和产卵等行为。在昆虫的嗅觉传递过程中有众多蛋白(如气味结合蛋白、嗅觉受体等)参与，其中嗅觉受体(olfactory receptor, OR)是气味的直接受体，它介导气味分子与嗅感受器内嗅觉受体神经元的专一性结合(雷宏等，2005)。研究证实，昆虫的嗅觉受体是一个具有 7 次跨膜结构的蛋白。类似于脊椎动物 G 蛋白偶联受体，但其氨基末端在细胞膜内侧，与 G 蛋白偶联受体在细胞膜外侧相反(Benton, 2006; Lundin *et al.*, 2007)。昆虫的嗅觉

基金项目：浙江省自然科学基金重大项目(D3080388)

作者简介：陈茜，女，1985 年生，硕士，主要从事昆虫分子生物学研究，E-mail：helloxi518518@yahoo.cn

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：dyj@wzmc.edu.cn

收稿日期 Received：2011-01-16；接受日期 Accepted：2011-03-21

传递机制不是传统的 G 蛋白模式，而是有其独特的离子门传递途径，非选择性地允许几乎所有阳离子通过，两者并不同源（Sato *et al*., 2008；Wicher *et al*., 2008）。昆虫嗅觉受体可以分为两类，一类是传统的气味受体，此类受体基因在不同昆虫间同源性较低，只在嗅觉神经元中有选择的表达，且表达量较低。这为昆虫接受各种不同的气味物质包括信息素提供了选择性基础（Reed, 1992）。另一类是 Or83b 受体家族，该类受体基因在昆虫各个发育阶段的大多数神经元中都有表达，在不同的昆虫间较为保守（Larsson *et al*., 2004），是一类非典型的气味受体（atypical odorant receptors）。与传统气味受体不同，此类受体不感受气味分子（Elmore and Smith, 2001；乔奇等，2008）。但在昆虫嗅觉识别过程中不可或缺，以与传统气味受体组成 Or83b/传统气味受体复合体的形式发挥作用（Larsson *et al*., 2004；Benton *et al*., 2006）。这些 OR 基因在昆虫的触角、下颚须或幼虫背部器官的嗅觉神经元（olfactory receptor neuron, ORN）中都有表达，一般每个 ORN 表达 1 ~ 3 种特异性 OR 和一个共有的 Or83b（Larsson *et al*., 2004；Sato *et al*., 2008）。对昆虫嗅觉分子机理的研究有助于开发基于嗅觉的驱虫剂等来控制害虫和病原菌寄主的数量（Sato and Touhara, 2008）。目前，对昆虫嗅觉受体的研究主要集中在嗅觉受体的发现和鉴定，而对于其功能方面的研究等未见报道。

斜纹夜蛾 *Spodoptera litura*（Fabricius）属鳞翅目（Lepidoptera）夜蛾科（Noctuidae），性信息素感觉特异性强，反应强烈，分布广，食性杂，危害植物达 99 科 290 多种（陈斌等，2008），因此是比较理想的嗅觉研究模式生物。目前主要集中在对其嗅觉气味结合蛋白（odorant-binding proteins, OBPs）的研究上。钟国华等（2008）鉴定了斜纹夜蛾的 2 种普通气味结合蛋白（general odorant binding protein, GOBP1 和 GOBP2）cDNA 序列；Xiu 等（2008）鉴定了斜纹夜蛾性信息结合蛋白（pheromone binding proteins, PBPs）的 cDNA 序列，并对 PBPs 基因的 RNA 表达和蛋白表达组织特异性进行了分析；吴仲南等（2009）对 GOBP1 基因表达定位进行了分析。而对斜纹夜蛾嗅觉受体的研究则较少，主要工作有修伟明等（2010）对斜纹夜蛾 Or83b 类似基因的克隆和序列分析，对其蛋白方面的研究未见报道。本实验研究的斜纹夜蛾嗅觉受体基因 *SlitOR2* 编码区 1 422 bp，编码 473 个氨基酸，推测的蛋白分子量约为 53 kD，跨膜结构结果分析表明具有 7 次跨膜结构（修伟明等，2010）。本文在分析斜纹夜蛾嗅觉受体蛋白结构及基因序列的基础上，通过 RT-PCR 和 Western blot 技术对该受体基因 *SlitOR2*（GenBank 登录号：DQ845292）mRNA 的组织特异性表达和不同发育阶段表达情况进行分析鉴定。为下一步深入研究嗅觉受体的功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

斜纹夜蛾为本研究所人工饲养，饲养条件为：26 ± 2℃，相对湿度 60% ~ 70%，光周期 14L∶10D。分别收集卵、各龄幼虫、各期蛹，羽化后 2 - 3 d 成虫的触角、头、胸、腹、足和翅等，将这些材料立即投放液氮中冷冻并保存备用。

1.2 主要试剂与仪器

TRIzol Reagent 购自 Invitrogen 公司；逆转录试剂盒购自上海博彩生物科技有限公司；2 × Taq master mix 和非预染蛋白质 Marker 购自北京天根生化科技有限公司；引物合成由 Invitrogen 公司完成；PVDF 膜为密理博公司产品；预染蛋白质 Marker、化学发光试剂和 BCA 蛋白定量试剂盒购自碧云天生物技术研究所；辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 及膜蛋白裂解液购自艾比玛特 Abmart（上海）生物医药有限公司。斜纹夜蛾特异的 anti- SlitOR2 多肽抗体由 Abmart 合成。本研究使用的其他试剂均为分析纯。紫外核酸分析仪为日立 U-0080D，PCR 仪为德国 Eppendorf Mastercycler 梯度 PCR。

1.3 RT-PCR 法分析 *SlitOR2* 基因的组织特异性表达和不同发育阶段表达

采用半定量 RT-PCR 方法对 *SlitOR2* 在斜纹夜蛾成虫不同组织（触角、头、胸、腹、足、翅）和不同发育期（卵、幼虫、蛹、成虫）的表达情况进行分析，以斜纹夜蛾 β-*actin* 作参照基因。实验重复 3 次。

1.3.1 引物设计：根据 GenBank 公开的 *SlitOR2* 的 cDNA 序列（GenBank 登录号：DQ845292）设计引物：P1：5′-TCACCATGGTGACCAAAGTGAAAGCACAGG-3′，P2：5′- CGCAAGCTTCAGCTGTACCAACACCATG-3′。预期产物片段为开放阅读框全长序列1 422 bp。

根据斜纹夜蛾 Actin 基因 cDNA 序列（GenBank 登录号：DQ494753）设计引物：P1：5′-CCTAAGGCCAACAGGGAGAAGATGA-3′，P2：5′-TAGATGGGGACGGTGTGGGAGACAC-3′。预期产物

片段大小为 165 bp。

1.3.2　不同时期总 RNA 提取及 RT-PCR：取保存于 -80℃的斜纹夜蛾雄性成虫触角、头、胸、腹、足和翅及卵、6 龄幼虫和羽化前 3 d 蛹各约 50 mg，用液氮分别充分研磨成粉状，立即加入 Trizol 试剂继续研磨至澄清液体状，转入 1.5 mL Eppendorf 管。按照 Invitrogen 公司的 Trizol 使用说明书进行总 RNA 提取。

第一链 cDNA 合成：第一链 cDNA 合成参照申能博彩 cDNA 第一链合成试剂盒进行。取 1 μg 总 RNA 和 Oligo（dT）$_{18}$（0.1 μg/μL）2 μL，RNase inhibitor 0.5 μL，加入无 RNA 酶的 ddH_2O 使总体积为 10.5 μL，轻柔混匀于 PCR 管中，置 65℃保温 10 min，再依次加入 5 × First strand buffer 4 μL，dNTP mix（10 mmol/L）2 μL，RNase inhibitor 0.5 μL，DTT（100 mmol/L）2 μL，M-MLV 反转录酶（200 U/μL）1 μL，37℃ 60 min，95℃ 5 min，立即转移置冰上冷却。管中即为合成的第一链 cDNA，-20℃保存备用。

以反转录获得 cDNA 为模板，先 PCR 扩增 *β-actin*，视 *β-actin* 各条带亮度一致后，再 PCR 扩增 SlitOR2。PCR 反应条件：*β-actin*（94℃ 预变性 5 min，94℃ 30 s，58℃ 30 s，72℃ 35 s，22 个循环，72℃ 10 min）；*SlitOR2*（94℃ 预变性 5 min，94℃ 30 s，60℃ 45 s，72℃ 60 s，26 个循环，72℃ 10 min）。PCR 产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4　Western blot 分析 SlitOR2 蛋白的组织特异性表达和不同发育阶段表达

在 SlitOR2 蛋白 N 端选取一段特异性较好的肽段“AENGGMTGLLRK”，经多肽特性分析表明，亲水性较好，特异性分析采用 ClustalW（http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2）。让 Abmart 公司合成斜纹夜蛾特异的 anti-SlitOR2 多肽抗体。取 -80℃冻存的斜纹夜蛾雄性成虫头、胸、腹、足、翅、触角及卵、6 龄幼虫和羽化前 3 d 蛹各约 20 mg，按照 Abmart 膜蛋白裂解液说明书操作，提取各个部位及不同发育期的膜蛋白。经 BCA 法测定蛋白浓度，以相同的上样量进行 SDS-PAGE 电泳。三明治夹心法湿转印至 PVDF 膜，封闭液（5% 的脱脂牛奶）封闭 1 h；接着以 anti-SlitOR2 多肽抗体为一抗（用 PBST 按 1∶200 的比例稀释），室温反应 1 h，PBST 洗膜 4 次；然后加入 PBST 稀释过的羊抗兔 IgG-HRP（1∶2 000），室温反应 1 h，PBST 洗膜 4 次，最后将膜置于含有 ECL 的发光底物液中反应，曝光、显影、定影，观察结果。

2　结果与分析

2.1　RT-PCR 分析 *SlitOR2* 在斜纹夜蛾不同组织和不同发育期的表达

采用半定量 RT-PCR 的方法比较 *SlitOR2* 的 mRNA 在斜纹夜蛾雄性成虫头、胸、腹、足、翅和触角等不同组织及卵期、幼虫期、蛹期和成虫期 4 个发育阶段的表达情况。从成虫各组织电泳图谱（图 1）可以看出，*SlitOR2* 主要在斜纹夜蛾触角中表达，在其他部位未检测到表达。从各时期电泳图谱（图 2）可以看出，*SlitOR2* 只在成虫期表达。

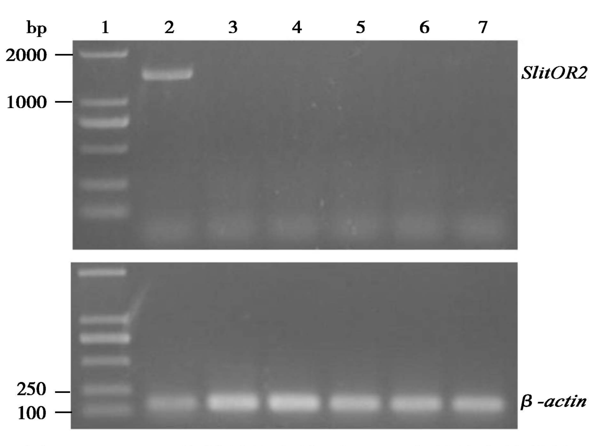


图 1　RT-PCR 分析斜纹夜蛾 *SlitOR2* 在斜纹夜蛾雄性成虫不同组织的表达

Fig. 1　Expression of *SlitOR2* in different male adult tissues of *Spodoptera litura* using RT-PCR

1：DL2000 DNA 分子量标准 DL2000 DNA marker；2：触角 Antennae；3：腹 Abdomen；4：胸 Thorax；5：足 Legs；6：翅 Wings；7：头 Head.

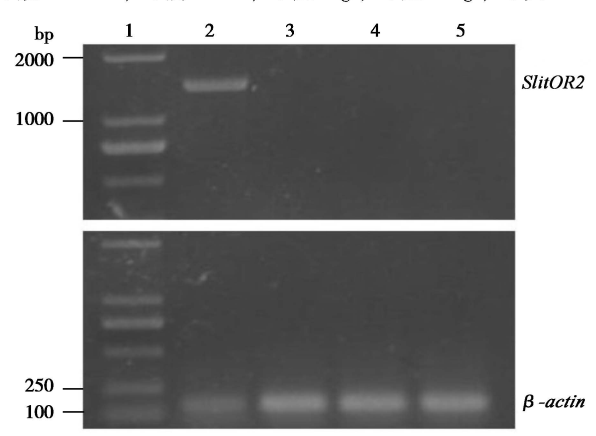


图 2　RT-PCR 分析斜纹夜蛾 *SlitOR2* 不同发育期的表达

Fig. 2　Expression of *SlitOR2* in different developmental stages of *Spodoptera litura* using RT-PCR

1：DL2000 DNA 分子量标准 DL2000 DNA marker；2：羽化后 2 d 雄性成虫触角 Antennae from male adults collected two days after emergence；3：卵 Eggs；4：6 龄幼虫头部 Heads of 6th instar larvae；5：羽化前 3 d 蛹头部 Heads from pupae collected three days before emergence.

2.2 Western blot 分析 SlitOR2 在斜纹夜蛾不同组织和不同发育期的表达

2.2.1 多肽的选择：选择 SlitOR2 蛋白 N 端的肽段“AENGGMTGLLRK”作为抗原，多肽特性分析表明，该段氨基酸序列亲水性较好。将 SlitOR2 蛋白 N 端的氨基酸序列与 GenBank 中已经登录的其他昆虫 DOR2 类受体 N 端的氨基酸序列进行 Clustal W 同源性比对分析，结果表明，该肽段特异性较好(图 3)。由 Abmart 公司合成多肽抗体。

```
Slit  ---MMTKVKAQGLVSDLMPNIKLMQAAGHFLFNYHAENGGMTGLLRKIYA 47
Hvir  ---MMTKVKAQGLVSDLMPNIKLMQMAGHFLFNYHSENAGMSNLLRKIYA 47
Dmel  MTTSMQPSKYTGLVADLMPNIRAMKYSGLFMHNFTGG----SAFMKKVYS 46
Agam  --MQVQPTKYVGLVADLMPNIRLMQASGHFLFRYVTG----PILIRKVYS 44
          :   *  ***:******: *: :* *:..:       . :::*:*:

Slit  STHAILITIHFACLGINMAQYSDEVNELTANTITVLFFTHTIIKLGFFAL 97
Hvir  STHAILIFIHYACMGINMAKYSDEVNELTANTITVLFFAHTIIKLAFFAL 97
Dmel  SVHLVFLLMQFTFILVNMALNAEEVNELSGNTITTLFFTHCITKFIYLAV 96
Agam  WWTLAMVLIQFFAILGNLATNADDVNELTANTITTLFFTHSVTKFIYFAV 94
           :: :::  :  *:*  :::****:.****.***:* : *: ::*:
```

图 3 斜纹夜蛾嗅觉受体Ⅱ与其他昆虫 DOR2 类受体 N 端序列的比对

Fig. 3 Alignment of N-terminal sequence of *Spodoptera litura* olfactory receptor Ⅱ (SlitOR2) with selected members of the DOR2 subfamily

方框部分代表选取的肽段 Box section indicates the selected peptide; Slit：斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* (GenBank accession no.: ABH10019); Hvir：烟芽夜蛾 *Heliothis virescensn* (GenBank accession no.: CAD31851); Dmel：黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* (GenBank accession no.: AAT71306); Agam：冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* (GenBank accession no.: AAR14938).

2.2.2 Western blot 分析 SlitOR2 蛋白在斜纹夜蛾不同组织和不同发育期的表达：用膜蛋白裂解液提取斜纹夜蛾成虫各个部位及不同发育期的总膜蛋白，以合成的斜纹夜蛾特异性的多肽抗体为一抗(1∶200稀释)，辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 为二抗(1∶2 000 稀释)，检测斜纹夜蛾成虫各个部位和各发育期嗅觉受体蛋白的表达情况。各个组织的膜蛋白 Western blot 结果表明(图 4：A)，合成的多肽抗体与各组织膜蛋白只有一条大小约为 53 kD 的目的条带出现，大小与该斜纹夜蛾嗅觉受体蛋白的预测分子量大小相符。且在各组织膜蛋白上样量一致的情况下，触角的蛋白条带最明显。在足、头等部位的相近位置也看到微弱蛋白条带，可能是该蛋白在足部和头部有微量表达，也可能是与目的蛋白大小类似的其他非特异性蛋白条带。各个发育期的膜蛋白 Western blot 结果(图 4：B)表明，成虫期有一条大小约为 53 kD 的目的条带出现；2 龄幼虫期有一条大小约为 41 kD 的条带，可能是非特异性蛋白条带，中期蛹在目的条带位置也有一条微弱带，可能是非特异性条带，也可能是有微量表达。这些结果表明，总的来说制备的多肽抗体特异性较好，该嗅觉受体蛋白主要在成虫触角表达。

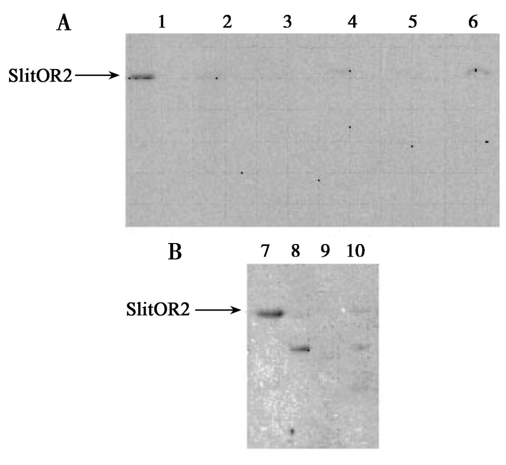


图 4 SlitOR2 蛋白在斜纹夜蛾雄性成虫不同组织(A)和不同发育期(B)的 Western blot 分析

Fig. 4 Western blot analysis of SlitOR2 protein in different male adult tissues (A) and different developmental stages (B) of *Spodoptera litura*

1：触角 Antennae; 2：腹 Abdomen; 3：胸 Thorax; 4：足 Legs; 5：翅 Wings; 6：头 Head; 7：羽化后 2 d 雄性成虫触角 Antennae from male adults collected two days after emergence; 8：2 龄幼虫头部 Heads of 2nd instar larvae; 9：6 龄幼虫头部 Heads of 6th instar larvae; 10：羽化前 3 d 蛹头部 Heads from pupae collected three days before emergence.

3 讨论

嗅觉受体无论在嗅觉的起始阶段还是在嗅觉信号的传递通路中都起着重要的作用，对 OR 基因功能的研究是认识昆虫化学信号分子识别机制的重要环节，有助于理解动物辨别环境中大量的化学气味物质的机制。SlitOR2 是一个典型的具有 7 次跨膜结构的嗅觉受体，经同源性比较分析表明，SlitOR2 的氨基酸序列与其他昆虫的 Or83b 类受体相似性达到 90% 以上（修伟明等，2010）。本文主要从转录和翻译两个水平研究 *SlitOR2* 的表达情况。从半定量 RT-PCR 结果来看，*SlitOR2* 的 mRNA 主要在斜纹夜蛾成虫触角中表达，这与烟芽夜蛾 *Heliothis virescensn* 等其他鳞翅目昆虫一致（Krieger *et al.*, 2002, 2003; Malpel *et al.*, 2008）。成虫各部位的 Western blot 杂交结果表明，多肽抗体除了特异地识别触角中分子量为 53 kD 左右的蛋白外，在足部、头部的目的条带位置也有微弱的蛋白条带，原因可能是存在与目的蛋白大小类似的其他非特异性蛋白条带，也可能是该蛋白在足部和头部有微量表达（Brigaud *et al.*, 2009），因为足部的跗节和头部的口喙也分布有少量的嗅感器（Malpel *et al.*, 2008），Pitts 等（2004）和 Krieger 等（2002）在冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 等蚊科和烟芽夜蛾的喙中有微量 OR2 的表达，果蝇中没有，可能因种属而异（Krieger *et al.*, 2002; Pitts *et al.*, 2004; Malpel *et al.*, 2008）.

昆虫各发育期的 Western blot 结果表明，幼虫期没有表达，在中期蛹的目的条带位置有一条十分微弱的带，成虫期在目的条带位置有一条明显的带。在烟草天蛾 *Manduca sexta* 触角感觉细胞的有丝分裂性增殖在化蛹后 20 – 24 h 就已经启动（Franco *et al.*, 2007）; Malpel 等（2008）在其他夜蛾科昆虫发现，羽化前 5 d 蛹的触角有微量 OR2 表达，羽化前 2 d 蛹的触角中有大量 OR2 表达。因此，本文报道符合昆虫嗅觉的基本发育规律，我们可以利用 Real-time PCR 等方法对其进行进一步的验证。

本文首次从蛋白水平对昆虫嗅觉受体的表达情况进行分析。直接从组织中提取蛋白，利用抗原抗体结合的特异性，准确性和灵敏度较高。此外，Western blot 结果表明，目的条带单一清晰，杂带不明显。因此选择该肽段合成的多肽抗体特异性较好，可以用于后续相关实验。本研究为今后开展斜纹夜蛾嗅觉受体蛋白功能方面的研究打下基础，如用 COIP 研究该嗅觉受体蛋白与其他蛋白的相互作用，进一步明确嗅觉传递的分子机理，为害虫的防治提供新思路。

参 考 文 献（References）

Benton R, 2006. On the origin of smell: odorant receptors in insects. *Cell. Mol. Life Sci.*, 63(14): 1579 – 1585.

Benton R, Sachse S, Michnick SW, Vosshall LB, 2006. Atypical membrane topology and heteromeric function of *Drosophila* odorant receptors in *vivo*. *PLoS Biol.*, 4(2): 240 – 257.

Brigaud I, Montagné N, Monsempes C, François MC, Jacquin-Joly E, 2009. Identification of an atypical insect olfactory receptor subtype highly conserved within noctuids. *FEBS J.*, 276: 6537 – 6547.

Chen B, Zhou XM, Bai LY, Zhang Y, 2008. Research progress in prevention and control of *Prodenia litura*. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 20(3): 52 – 54. ［陈斌，周小毛，柏连阳，张亚，2008. 斜纹夜蛾防治研究进展. 江西农业学报，20(3): 52 – 54］

Elmore T, Smith DP, 2001. Putative *Drosophila* odor receptor OR43b localizes to dendrites of olfactory neurons. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 31(8): 791 – 798.

Franco MD, Bohbot J, Fernandez K, Hanna J, Poppy J, Vogt R, 2007. Sensory cell proliferation within the olfactory epithelium of developing adult *Manduca sexta* (Lepidoptera). *PLoS One*, 2(2): 1 – 16.

Krieger J, Klink O, Mohl C, Raming K, Breer H, 2003. A candidate olfactory receptor subtype highly conserved across different insect orders. *J. Comp. Physiol. A*, 189: 519 – 526.

Krieger J, Raming K, Dewer YM, Bette S, Conzelmann S, Breer H, 2002. A divergent gene family encoding candidate olfactory receptors of the moth *Heliothis virescensn*. *Eur. J. Neurosci.*, 16: 619 – 628.

Larsson MC, Domingos AI, Jones WD, Chiappe ME, Amrein H, Vosshall LB, 2004. *Or83b* encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction. *Neuron*, 43: 703 – 704.

Lei H, Qiu YT, Christensen TA, 2005. Olfaction in Insects: Structural Correlates of Function. Science Press, Beijing. 132 – 169. ［雷宏，邱宇彤，Christensen TA，2005. 昆虫嗅觉系统的结构与功能. 北京：科学出版社. 132 – 169］

Lundin C, Käll L, Kreher SA, Kap PK, Sonnhammer EL, Carlson JR, Heijne G, Nilsson I, 2007. Membrane topology of the *Drosophila* OR83b odorant receptor. *FEBS Lett.*, 581(29): 5601 – 5604.

Malpel S, Merlin C, François MC, Jacquin-Joly E, 2008. Molecular identification and characterization of two new Lepidoptera chemoreceptors belonging to the *Drosophila melanogaster* OR83b family. *Insect Mol. Biol.*, 17: 587 – 596.

Pitts RJ, Fox AN, Zwiebel LJ, 2004. A highly conserved candidate chemoreceptor expressed in both olfactory and gustatory tissues in the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101(14): 5058 – 5063.

Qiao Q, Yuan GH, Li HC, Guo XR, Luo MH, 2008. Research advances in odorant receptors in insects. *Acta Entomologica Sinica*, 51(1): 75 – 80. [乔奇, 原国辉, 李海超, 郭线茹, 罗梅浩, 2008. 昆虫气味受体研究进展. 昆虫学报, 51(1): 75 – 80]

Reed RR, 1992. Signaling pathways in odorant detection. *Neuron*, 8 (2): 205 – 209.

Sato K, Pellegrino M, Nakagawa T, Nakagawa T, Vosshall LB, Touhara K, 2008. Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels. *Nature*, 452(7190): 1002 – 1006.

Sato K, Touhara K, 2009. Insect olfaction: Receptors, signal transduction, and behavior. *Results Probl. Cell Differ.*, 47: 121 – 138.

Wicher D, Schäfer R, Bauernfeind R, Stensmyr MC, Heller R, Heinemann SH, Hansson BS, 2008. *Drosophila* odorant receptors are both ligand-gated and cyclic-nucleotide-activated cation channels. *Nature*, 452(7190): 1007 – 1011.

Wu ZN, Du YJ, Zhuge QC, 2009. Expression and localization analysis of general odorant binding protein 1 (GOBP1) gene in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomologica Sinica*, 52 (6): 610 – 616. [吴仲南, 杜永均, 诸葛启钏, 2009. 斜纹夜蛾普通气味结合蛋白 GOBP1 基因的表达定位分析. 昆虫学报, 52(6): 610 – 616]

Xiu WM, Zhang YF, Yang DL, Dong SL, Liu YS, 2010. Molecular cloning and sequence analysis of two cDNA genes of two new Lepidoptera OR83b orthologue chemoreceptors. *Scientia Agricultura Sinica*, 43(3): 618 – 625. [修伟明, 张逸凡, 杨殿林, 董双林, 刘玉升, 2010. 2 个新的鳞翅目 OR83b 类化感蛋白基因的克隆和序列分析. 中国农业科学, 43(3): 618 – 625]

Xiu WM, Zhou YZ, Dong SL, 2008. Molecular characterization and expression pattern of two pheromone-binding proteins from *Spodoptera litura* (Fabricius). *J. Chem. Ecol.*, 34: 487 – 498.

Zhong GH, Li MM, Hu MY, Luo Q, Ma JL, 2008. Cloning and sequence analysis of *SlitGOBP1* encoding a general odorant binding protein 1 from *Spodoptera litura*. *Journal of South China Agricultural University*, 29(2): 38 – 43. [钟国华, 李苗孟, 胡美英, 罗倩, 马金亮, 2008. 斜纹夜蛾普通气味结合蛋白基因 *SlitGOBP1* 的克隆及序列分析. 华南农业大学学报, 29(2): 38 – 43]

(责任编辑: 赵利辉)